

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 06 July 2000 (06.07.00)	
International application No.: PCT/JP99/07269	Applicant's or agent's file reference: 11629
International filing date: 24 December 1999 (24.12.99)	Priority date: 25 December 1998 (25.12.98)
Applicant: NISHIMURA, Yoshio et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:
16 May 2000 (16.05.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer:</p> <p>J. Zahra</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4T
1000T
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 11629	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/07269	International filing date (day/month/year) 24 December 1999 (24.12.99)	Priority date (day/month/year) 25 December 1998 (25.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07H 7/02, A61K 31/7008, A61P 3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00		
Applicant ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet. <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16 May 2000 (16.05.00)	Date of completion of this report 30 May 2000 (30.05.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/07269

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP 99/07269

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

None of the documents cited in the international search report discloses a siastatin B derivative represented by Formula (I), (V) or (X) which inhibits glycosidase, and such derivatives are not obvious to a person skilled in the art.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

6T

特 許 協 力 条 約

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕


REC'D 09 JUN 2000

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 11629	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/07269	国際出願日 (日.月.年) 24.12.99	優先日 (日.月.年) 25.12.98
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00		
出願人 (氏名又は名称) 財団法人 微生物化学研究会		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u> </u> ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 16.05.00	国際予備審査報告を作成した日 30.05.00	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 吉住 和之 	4P 9165
電話番号 03-3581-1101 内線 3490		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- | | | | |
|-------------------------------------|---------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ | ページ、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ | 項、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| | | | |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 | 第 _____ | ページ、 | 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語
3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-10 有
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-10 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-10 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

グリコシダーゼ阻害活性を示す式(I)、(V)及び(X)のシアスタチンB誘導体は、国際調査報告に列記されたいずれの文献にも記載されておらず、当業者にとって自明なものでもない。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

E P



P C T 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 11629	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/07269	国際出願日 (日.月.年) 24.12.99	優先日 (日.月.年) 25.12.98
出願人(氏名又は名称) 財団法人 微生物化学研究会		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☐ 出願人が提出したものを承認する。

☒ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

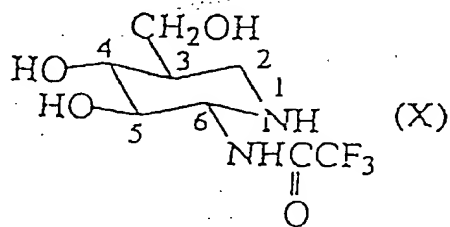
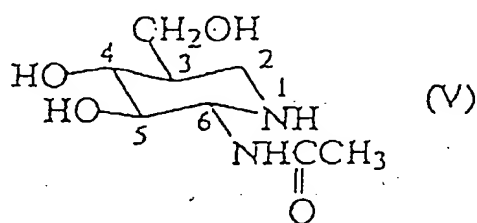
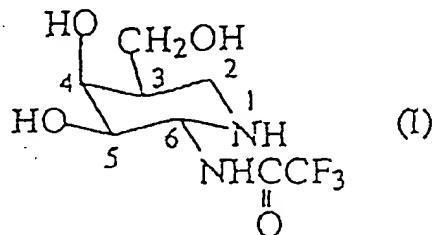
☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

第Ⅲ欄 要約 (第1ページの5の続き)

グリコシダーゼに強い阻害活性を示す新規なシアスタチンB誘導体である式(I)の化合物、式(V)の化合物および式(X)の化合物、が新規な方法により合成された。



式(I)の化合物、式(V)の化合物及び式(X)の化合物は、グリコシダーゼ、特にN-アセチルガラクトサミニダーゼ、ガラクトシダーゼ、グルコシダーゼおよびマンノシダーゼに対して強い酵素阻害活性を有する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X, P	EIKI SHITARA, YOSHIO NISHIMURA, FUKIKO KOJIMA, TOMIO TAKEUCHI, "A Facile Synthesis of D-Galactose-type Gem Diamine 1-N-Imino sugar: A New Family of Galactosidase Inhibitor", The Journal of Antibiotics, 1999, Vol. 52, No. 3, p. 348-350	1, 4, 7-10
X, P	EIKI SHITARA, YOSHIO NISHIMURA, FUKIKO KOJIMA, TOMIO TAKEUCHI, "A facile Synthesis of D-Glucose-type gem-Diamine 1-N-Iminosugars: A New Family of Glucosidase Inhibitors", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1999, Vol. 7, No. 6, p. 1241-1246	1-3, 5-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02.02.00

国際調査報告の発送日

15.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

吉住 和之

4P

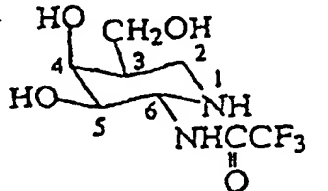
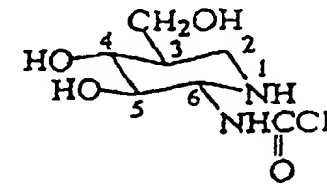
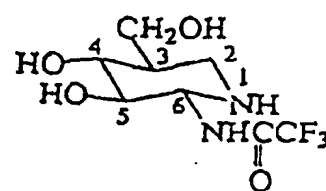
9165

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

THIS PAGE BLANK (USPTO)

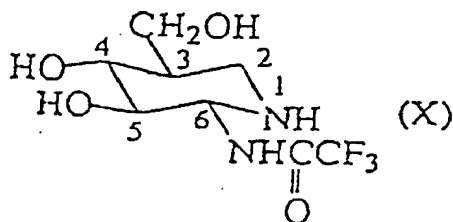
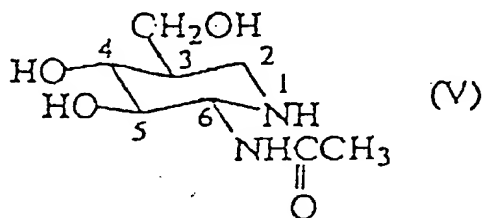
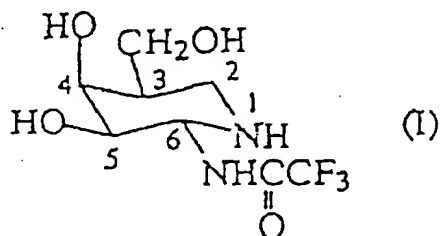
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 9-157254, A (財団法人微生物化学研究会) 17. 6月. 1997 (17. 06. 97) (ファミリーなし)	1-10
A	YOSHIO NISHIMURA, TAKAHIKO SATOH, TOSHIKI KUDO, SHINICHI KOND O, TOMIO TAKEUCHI, "Synthesis and Activity of 1-N-Iminosugar I nhibitors, Siastatin B Analogues for alpha-N-Acetylgalactosam inidase and beta-N-Acetylglucosaminidase", Bioorganic & Medic inal Chemistry, 1996, Vol. 4, No. 1, p. 91-96	1-10

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<p>(51) 国際特許分類7 C07H 7/02, A61K 31/7008, A61P 3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/39140</p> <p>(43) 国際公開日 2000年7月6日(06.07.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/07269</p> <p>(22) 国際出願日 1999年12月24日(24.12.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/370277 1998年12月25日(25.12.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 財団法人 微生物化学研究会 (ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI) [JP/JP] 〒141-0021 東京都品川区上大崎3丁目14番23号 Tokyo, (JP) 明治製菓株式会社(MEIJ SEIKA KAISHA, LTD.)[JP/JP] 〒104-8002 東京都中央区京橋2丁目4番16号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 西村吉男(NISHIMURA, Yoshio)[JP/JP] 〒201-0005 東京都狹江市岩戸南3丁目18番21号 Tokyo, (JP) 設楽永紀(SHITARA, Eiki)[JP/JP] 〒230-0076 神奈川県横浜市鶴見区馬場2丁目32番15号 マインドハウス203 Kanagawa, (JP)</p>		<p>竹内富雄(TAKEUCHI, Tomio)[JP/JP] 〒141-0022 東京都品川区東五反田5丁目1番11号 ニューフジマンション701 Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 八木田茂, 外(YAGITA, Shigeru et al.) 〒105-0003 東京都港区西新橋1丁目1番15号 物産ビル別館 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 CA, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: SIASTATIN B DERIVATIVES HAVING GLYCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITIES AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME</p> <p>(54)発明の名称 グリコシダーゼ阻害活性を有するシアスタチンB誘導体およびそれらの製造法</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;">  <p>(I)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(V)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(X)</p> </div> </div> <p>(57) Abstract Compounds represented by formulae (I), (V) and (X), which are novel siastatin B derivatives having potent glycosidase inhibitory activities, are synthesized by a novel process. The compounds of the formulae (I), (V) and (X) have potent inhibitory activities on glycosidase enzymes, in particular, N-acetylgalactosaminidase, galactosidase, glucosidase and mannosidase.</p>		

(57)要約

グリコシダーゼに強い阻害活性を示す新規なシアスタチン B 誘導体である式 (I) の化合物、式 (V) の化合物および式 (X) の化合物、が新規な方法により合成された。



式 (I) の化合物、式 (V) の化合物及び式 (X) の化合物は、グリコシダーゼ、特に N-アセチルガラクトサミニダーゼ、ガラクトシダーゼ、グルコシダーゼおよびマンノシダーゼに対して強い酵素阻害活性を有する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AG アンティグア・バーブーダ	DZ アルジェリア	LC セントルシア	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LR リベリア	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LS レソト	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BE ベルギー	GE グルジア	MA モロッコ	TD チャード
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TM トルクメニスタン
BR ブラジル	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR トルコ
BY ベラルーシ	GW ギニア・ビサオ		TT トリニダード・トバゴ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TZ タンザニア
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CM カメルーン	IN インド	MZ モザンビーク	VN ウェトナム
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	YU ユーゴスラヴィア
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

明 細 書

グリコシダーゼ阻害活性を有するシアスタチン B
誘導体およびそれらの製造法

技術分野

5 本発明はグリコシダーゼに対する阻害活性を有する新規シアスタチン B 誘導体およびその製薬学的に許容される塩に関する。詳しくは、本発明は、そのような新規シアスタチン B 誘導体としての 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロ
10 アセタミドシアスタチン B およびその 4-エピ体、ならびに 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B、あるいはそれらの製薬学的に許容される塩に関する。また本発明はそれら新規なシアスタチン B 誘導体の製造法に関する。さらに、本発明は前記の
15 新規なシアスタチン B 誘導体を有効成分とする医薬組成物にも関し、またグリコシダーゼ阻害剤にも関する。

背景技術

種々なグリコシダーゼは動物細胞、微生物やウイルスなどに幅広く分布する酵素である。哺乳動物ではグリコ
20 シダーゼは糖質代謝を通して、細胞の癌化、癌細胞の転移や、ウイルス感染、細菌感染や免疫機能、ならびに卵子の受精などを含めて、糖蛋白や糖脂質糖鎖が関与する多種多様な生理機序を支配していると考えられている。また、ある種のグリコシダーゼは、デンプンやシュウク

ロースなどの多糖やオリゴ糖の分解を通して食物の消化機構に関与している。さらに、細胞膜上に結合している糖鎖を切断するグリコシダーゼに対する阻害物質は、免疫調節作用および癌細胞の転移を抑制する作用、ならび
5 にエイズウイルスやインフルエンザウイルスの感染を抑制する作用を有する可能性があることが認められている。また、食物の消化機構に関与する異化作用を有するグリコシダーゼに対する阻害物質は、抗糖尿病薬、抗肥満薬として有用であると重要視されている。

10 このように、グリコシダーゼは生体で重要な酵素であるから、グリコシダーゼの生理学的性質の研究も重要である。グリコシダーゼの性質を研究する上には、グリコシダーゼの酵素活性を阻害する作用を有する物質が利用できる。また、ある種のグリコシダーゼ阻害物質は癌細胞
15 の転移の抑制剤として利用できると期待できる。従って、毒性が低く且つ水溶性でしかもグリコシダーゼ阻害活性が強い新しい化合物を提供することが強く要望されている。

本発明の1つの目的は、グリコシダーゼに強い阻害活性
20 性を示す新規なシアスタチンB誘導体を提供することであり、また本発明の別の目的はそのような新規シアスタチンB誘導体の製造方法を提供することにある。

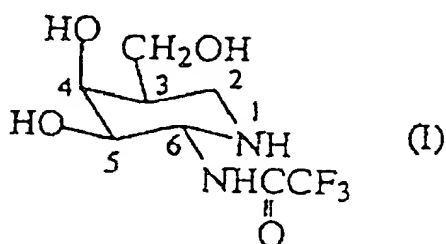
本発明のさらに別の目的は、グリコシダーゼ阻害活性を有する前記シアスタチンB誘導体を有効成分とする医

薬組成物、ならびにグリコシダーゼ阻害剤を提供することにある。

発明の開示

本発明の前記の目的を達成するために、本発明者らは、
5 グリコシダーゼ阻害物質としてのシアスタチン B 誘導体に注目して多数のシアスタチン B 誘導体の合成を行い、そしてそれらシアスタチン B 誘導体の生物学的活性について鋭意研究を行った。その結果、強力なグリコシダーゼ阻害活性を有し、且つ後記の式 (I)、(V) および
10 (X) でそれぞれ示される 3 種の新規シアスタチン B 誘導体を合成することに成功した。また、式 (I)、(V) および (X) のシアスタチン B 誘導体を効率よく合成できる新規な製造方法を見出した。これらの知見に基づいて、本発明を完成した。

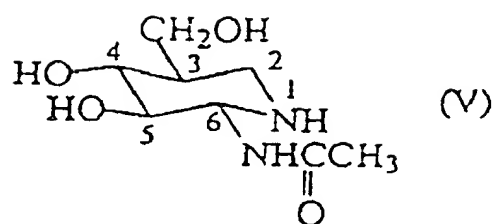
15 従って、第 1 の本発明では、式 (I)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B またはその製薬学的に許容できる塩が提供され
20 る。

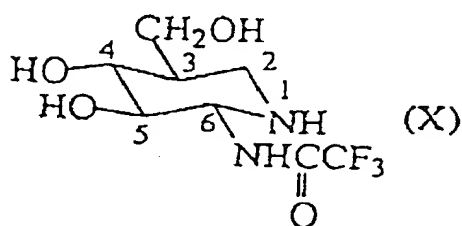
第 2 の本発明では、式 (V)

4



で表される 3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B またはその製薬学的に許容できる塩が提供される。

5 第 3 の本発明では、式 (X)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピー-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B またはその製薬学的に許容できる塩が提供される。

第 1、第 2 および第 3 の本発明による式 (I)、式 (V) および式 (X) をそれぞれ有するシアスタチン B 誘導体の塩には、これらの式の化合物のイミノ基における酸付加塩が包含される。このような酸付加塩には、特に製薬学的に許容できる鉱酸、例えば塩酸、硫酸、あるいは有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸等との製薬学的に許容できる酸付加塩がある。

次に、第 1、第 2 および第 3 の本発明による式 (I)

の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシ
シメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B
と式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロ
キシシメチルシアスタチン B と式 (X) の 6-デアセタミ
5 ド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシシメチ
ル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B の各々
の塩酸塩の理化学的性状を示す。

(1) 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒド
ロキシシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチ
10 ン B [式 (I) の化合物]

色および形状：無色無定形固体

分子式： $C_8H_{13}N_2O_4F_3 \cdot HCl$

比旋光度： $[\alpha]^{27}_D + 38.8^\circ$ (c 0.64、メタノール)

1H -NMR スペクトル (CD_3OD , δ ppm): 2.06 ~
15 2.15 (1 H, m, 5-H), 3.18 (1 H, br t, $J=12.0$
Hz, 6-H_{ax}), 3.22 (1 H, dd, $J=12.3$, 5.4 Hz,
6-H_{eq}), 3.58 (1 H, dd, $J=10.7$, 7.3 Hz,
-CH₂OH), 3.69 (1 H, dd, $J=10.7$, 6.4 Hz,
-CH₂OH), 3.90 (1 H, dd, $J=10.3$, 2.9 Hz,
20 3-H), 4.08 ~ 4.12 (1 H, m, 4-H), 5.07 (1 H,
d, $J=10.3$ Hz, 2-H)

IR スペクトル (KBr): 3300, 2890, 1720, 1550,
1430, 1220, 1180 cm^{-1}

マスマスペクトル (FAB-MS): m/z 259.2 ($M+H$)⁺,

185.2, 146.2, 93.1, 75.1, 57.1

(2) 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメ
チルシアスタチンB [式(V)の化合物]

色および形状：無色無定形固体

5 分子式： $C_8H_{16}N_2O_4 \cdot HCl$

比旋光度： $[\alpha]^{26}_D +45.4^\circ$ (c 0.50、メタノール)

1H -NMR スペクトル (CD_3OD , δ ppm) : 1.83
~1.97 (1H, m, 5-H), 2.06 (1H, s,
-NHCOCH₃), 3.04 (1H, br t, J=12.7 Hz,
10 6-H_{ax}), 3.36 (1H, dd, J=13.2, 4.4 Hz,
6-H_{eq}), 3.47 (1H, dd, J=10.8, 8.8 Hz,
4-H), 3.60 (1H, dd, J=10.3, 8.8 Hz, 3-H),
3.65 (1H, dd, J=11.2, 6.8 Hz, -CH₂OH),
3.83 (1H, dd, J=11.2, 3.4 Hz, -CH₂OH),
15 4.71 (1H, d, J=10.3 Hz, 2-H)

IR スペクトル (KBr): 3350, 1680, 1550, 1380,
1290, 1100, 1060, 890 cm^{-1}

マススペクトル (FAB-MS): m/z 205.2 (M+H)⁺,
154.1, 146.1, 136.1, 107, 89, 77

20 (3) 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ
-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド
シアスタチンB [式(X)の化合物]

色および形状：無色無定形固体

分子式： $C_8H_{13}N_2O_4F_3 \cdot HCl$

比旋光度: $[\alpha]^{26}_D + 35.0^\circ$ (c 0.50、メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CD_3OD , 40°C , δ ppm):
1.88~2.00 (1 H, m, 5-H), 3.11 (1 H, br t, $J=$
13.2 Hz, 6-H_{ax}), 3.42 (1 H, dd, $J=13.2, 4.4$ Hz,
5 6-H_{eq}), 3.51 (1 H, dd, $J=10.3, 9.3$ Hz, 4-H),
3.67 (1 H, dd, $J=11.2, 6.4$ Hz, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 3.73
(1 H, dd, $J=10.3, 8.8$ Hz, 3-H), 3.84 (1 H,
dd, $J=11.2, 3.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 4.84 (1 H, d,
 $J=9.8$ Hz, 2-H)

10 IR スペクトル (KBr): 3350, 1740, 1570, 1420,
1230, 1180, 1100, 1060, 990, 880 cm^{-1}

マススペクトル (FAB-MS): m/z 259.1 ($\text{M} + \text{H}$)⁺,
202.2, 154.1, 146.1, 136.1, 128.1, 107, 77.1, 57.1

本発明による式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカ
15 ルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロア
セタミドシアスタチン B と式 (V) の 3-デカルボキシ
-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B と式
(X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エ
ピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミ
20 ドシアスタチン B がそれぞれにグリコシダーゼ阻害活性
を有することを以下に試験例 1~5 により示す。

試験例 1

本試験例は、本発明による式 (I)、式 (V) または
式 (X) の化合物の N-アセチルガラクトサミニダーゼ

阻害活性を測定する試験例である。

N-アセチルガラクトサミニダーゼ阻害活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第252巻、5194～5200頁(1977)に記載の方法の改良法で行った。

- 5 即ち、0.025 Mクエン酸-リン酸緩衝液 (pH4.0) 0.5mLと同緩衝液に溶解させた10mMパラニトロフェニル-N-アセチル- α -D-ガラクトサミニド0.1mLと、本発明による式(I)、(V)および(X)の化合物の何れか1つを検体として含む水溶液、あるいは水 0.1mLとを96穴
- 10 タイタープレート中、37℃で10分間プレーインキュベーションした。プレーインキュベーション終了後、供試のグリコシダーゼとして、同緩衝液に溶解させたニワトリ肝臓の α -N-アセチルガラクトサミニダーゼ(Sigma社製) 0.01mLを加えた後、37℃で30分間反応させた。
- 15 反応後、反応液に 0.3Mグリシン-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH10.5) 1.0mL を加えて酵素反応を停止させた。その後に、その反応液の 405nmにおける吸光度 (a) を測定した。同時に検体を含まない対照試験での反応液の吸光度 (b) を測定し、またそれぞれに対する対照とし
- 20 ての酵素反応をしない盲検の吸光度 (a') および (b') を測定した。N-アセチルグルコサミニダーゼ阻害率は式 $[1 - (a - a') / (b - b')] \times 100$ により計算した。供試酵素の活性を50%阻害させる検体の濃度、すなわち、酵素の50%阻害率を示す検体の濃度を IC₅₀。

の値とした。I C₅₀値として得られた試験結果は後記の表 1 に要約して示す。

試験例 2

本試験例は、本発明による式 (I) 、式 (V) または
5 式 (X) の化合物の N - アセチルグルコサミニダーゼ阻
害活性を測定する試験例である。

N - アセチルグルコサミニダーゼ阻害活性の評価は
「Methods in Enzymology」第 28 巻、772 頁 (1972) に記
載の方法の改良法で行った。

10 即ち、供試のグリコシダーゼ酵素としてウシ精巢上体
の β - N - アセチルガラクトサミニダーゼ (Sigma 社製)
を用い、基質としてパラニトロフェニル - N - アセチル
- β - D - グルコサミニドを用いて、上記 N - アセチル
ガラクトサミニダーゼ阻害活性の試験と同様の方法で試
15 験を行った。また、上記と同様の方法で吸光度を測定し、
また β - N - アセチルグルコサミニダーゼの 50 % 阻害率
を与える検体の I C₅₀ 値を計算した。その I C₅₀ 値を後
記の表 1 に示す。

試験例 3

20 本試験例は、本発明による式 (I) 、式 (V) または
(X) の化合物の α - ガラクトシダーゼおよび β - ガラ
クトシダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

α - ガラクトシダーゼおよび β - ガラクトシダーゼ阻害
活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第 2

40巻、2468頁（1965）に記載の方法の改良法で行った。

即ち、グリコシダーゼ酵素としてアスペルギラス・ニゲル (*Aspergillus niger*) の α -ガラクトシダーゼおよび β -ガラクトシダーゼ (Sigma社製) を用い、基質としてパラニトロフェニル- α -D-ガラクトシドおよびパラニトロフェニル- β -D-ガラクトシドを用いて、試験例1の阻害活性試験と同様の方法で試験を行った。また、試験例1と同様の方法で吸光度を測定し、酵素の50%阻害率を与える検体の IC_{50} 値を計算した。その IC_{50} 値を表1に示す。

試験例 4

本試験例は、本発明による式 (I)、式 (V) または式 (X) の化合物の α -グルコシダーゼおよび β -グルコシダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

15 β -グルコシダーゼ阻害活性の評価は「Agricultural and Biological Chemistry」第26巻、203頁（1962）に記載の方法の改良法で行った。

即ち、グリコシダーゼ酵素として酵母の α -グルコシダーゼおよびアーモンドの β -グルコシダーゼ (Sigma社製) を用い、基質としてパラニトロフェニル- α -D-グルコシドおよびパラニトロフェニル- β -D-グルコシドを用いて、試験例1の阻害活性試験と同様の方法で試験を行った。また、試験例1と同様の方法で吸光度を測定し、酵素の50%阻害率を与える検体の IC_{50} 値を

計算した。その IC_{50} 値を表 1 に示す。

試験例 5

本試験例は、本発明化合物の α -マンノシダーゼおよび β -マンノシダーゼ阻害活性を測定する試験例である。

5 β -マンノシダーゼ阻害活性の評価は「Journal of Biological Chemistry」第 242 巻、5474 頁（1967）に記載の方法の改良法で行った。

即ち、グリコシダーゼ酵素としてジャック・ビーンの α -マンノシダーゼおよびかたつむりの β -マンノシダーゼ（Sigma 社製）を用い、緩衝液として、0.05M の酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液（pH4.5）を用い、基質として、
10 パラニトロフェニル- α -D-マンノシドおよびパラニトロフェニル- β -D-マンノシドを用いて、試験例 1 の阻害活性試験と同様の方法で試験を行った。また、試験例 1 と同様の方法で吸光度を測定し、酵素の 50% 阻害率を与える検体の IC_{50} 値を計算した。 IC_{50} 値について得られた試験結果を次の表 1 に示す。

表 1

本発明化合物	50% 阻害濃度 (IC ₅₀) (μg/ml)							
	酵素 A ^a	酵素 B ^b	酵素 C ^c	酵素 D ^d	酵素 E ^e	酵素 F ^f	酵素 G ^g	酵素 H ^h
式 (I)	0.65	22	0.1	0.05	0.14	38	>100	>100
式 (V)	>100	3	>100	>100	1.4	10	65	7
式 (X)	>100	>100	>100	60	0.13	1	0.75	0.06

(注): a 酵素 A : α-N-アセチルガラクトサミニダーゼ (ニワトリ肝臓)

b 酵素 B : β-N-アセチルグルコサミニダーゼ (ウシ精巣上体)

5 c 酵素 C : α-D-ガラクトシダーゼ (アスペルギラス・ニゲル)

d 酵素 D : β-D-ガラクトシダーゼ (アスペルギラス・ニゲル)

10 e 酵素 E : β-D-グルコシダーゼ (アーモンド)

f 酵素 F : β-D-マンノシダーゼ (カタツムリ)

g 酵素 G : α-D-マンノシダーゼ (ジャックビーン)

15 h 酵素 H : α-D-グルコシダーゼ (酵母)

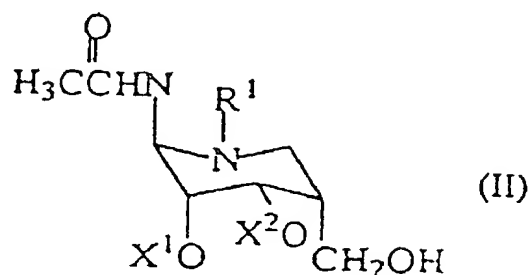
表 1 に示す通り、式 (I) で示される第 1 の本発明の化合物は、N-アセチルグルコサミニダーゼ、N-アセチルガラクトサミニダーゼ、α-D-ガラクトシダーゼ、

β -D-ガラクトシダーゼ、 β -D-グルコシダーゼおよび β -D-マンノシダーゼを強く阻害する。また、式(V)で示される第2の本発明の化合物は、 β -N-アセチルグルコサミニダーゼ、 β -D-マンノシダーゼ、
5 β -D-グルコシダーゼ、 α -D-マンノシダーゼおよび α -D-グルコシダーゼを強く阻害する。また式(X)で示される第3の本発明の化合物は、 β -D-ガラクトシダーゼ、 β -D-マンノシダーゼ、 β -D-グルコシダーゼ、 α -D-マンノシダーゼおよび α -D-グルコシダーゼを強く阻害する。従って、これら本発明化合物は上記酵素の阻害剤として極めて有効である。
10

また、式(I)、(V)および(X)でそれぞれ示される本発明化合物は、哺乳動物における癌細胞の転移の機序、およびエイズウイルスの感染の機序に關与するグリ
15 リコシダーゼ、さらに、食物の消化機構に關与する異化作用グリコシダーゼも阻害できる活性を有すると推定できるから、癌の治療に利用できる癌細胞の転移抑制剤として、およびエイズウイルスの感染阻害剤として、さらに、抗糖尿病薬、抗肥満薬として有用であると期待される。
20 　また、グリコシダーゼの生体内の働きを研究する試薬として有用である。

次に、式(I)で示される6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBの製造法を説明する。

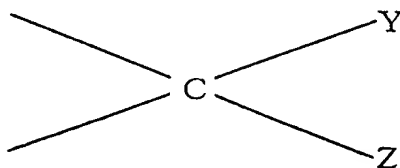
第1の本発明による式(I)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBを製造するには、最初の原料として次の一般式(II)



5
 (式中、R¹は水素原子またはイミノ保護基であり、X¹とX²はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいはX¹とX²は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す)で表されるN-保護または非保護
 10 -4, 5-〇-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを用いる。この式(II)の化合物は放線菌ストレプトミセス・バーチシラス・バリエダス・クインツム (*Streptomyces verticillus* var. *quintum* (微工研菌寄第507号)を培養して得られるシア
 15 スタチンB(特公昭55-46714号公報)から、特開平9-157254号明細書に記載の方法によるか、あるいは「Carbohydrate Research」第286巻、173~178頁(1996)に記載の佐藤らの方法によって製造される。

上記の式(II)の化合物におけるイミノ保護基(R¹)
 20 は、加水分解法で脱離できるアルコキシカルボニル基、

アリールオキシカルボニル基またはアラルキルオキシカルボニル基であるのが好ましく、特にターシャリーブトキシカルボニル基であるのが便利である。イミノ保護基 (R^1) の導入は常法で行うことができる。前記の式 (II) の化合物の 4 位及び 5 位のヒドロキシル基を同時に保護する 2 価のヒドロキシル保護基 (X^1 、 X^2) はベンジリデン基であるのが便利である。しかし一般的にはその他の各種の 2 価のヒドロキシル保護基を保護基 X^1 、 X^2 として利用できる。すなわち、次式

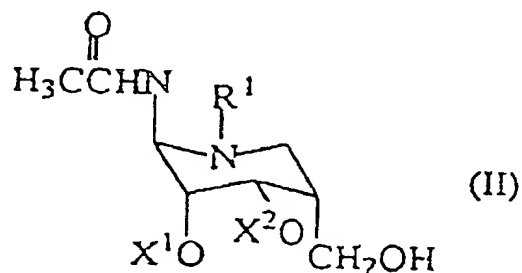


〔但し Y 及び Z は、互いに同じ又は異なってもよく、それぞれが水素、アルキル基（好ましくは炭素数 1 ～ 4 の低級アルキル基）又はアリール基（好ましくはフェニル基又は置換フェニル基、例えばパラメトキシフェニル基）である〕で表される 2 価のヒドロキシル保護基を利用できる。例えば、ベンジリデン基に代えて、イソプロピリデン基により、あるいはシクロアルキリデン基、例えばシクロヘキシリデン基またはテトラヒドロピラニリデン基により式 (II) の化合物の 4 位および 5 位のヒドロキシル基を同時に保護することもできる。

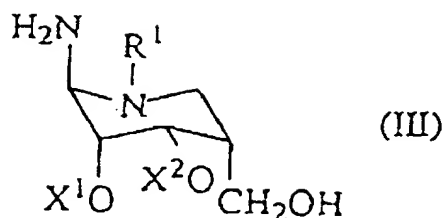
このような 2 価のヒドロキシル保護基の導入は、糖の化学において、隣接する 2 個の炭素原子に結合するヒド

ロキシシル基の2個を同時に保護するためのヒドロキシシル
 基保護の慣用技術に従って行われる。また別に、適当な
 1 価のヒドロキシシル保護基 (X^1 、 X^2) としてトリアル
 キルシリル基、特にターシャリーブチルジメチルシリル
 5 基を用いることができ、常法で導入できる。上記のよ
 うに調製された式(II)の化合物を出発化合物として用い
 て、これを複数の工程で化学的に変換することにより、
 式(Ⅰ)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-
 ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアス
 10 タチンBを製造できる。

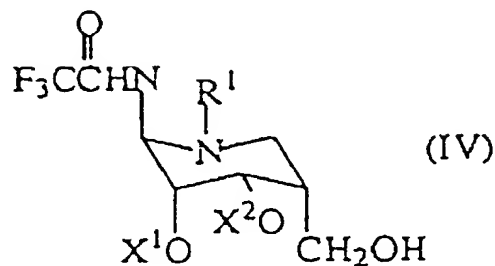
従って、第4の本発明においては、次の一般式(II)



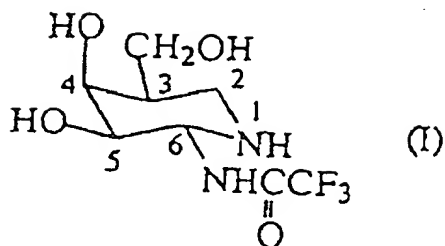
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^1
 と X^2 はそれぞれに1価のヒドロキシシル保護基であるか、
 15 あるいは X^1 と X^2 は両者が共同して2価のヒドロキシ
 ル保護基1個を示す)で表されるN-保護または非保護
 -4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカ
 ルボキシシアスタチンBからN-アセチル基を脱離して
 次の一般式(III)



(式中、 R^1 、 X^1 および X^2 は前記と同じ意味をもつ)
 で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-
 3-ヒドロキシメチル-デ- N -アセチル-3-デカル
 5 ボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(III)の化合
 物の遊離のアミノ基をトリフルオロアセチル化して、こ
 れにより次の一般式(IV)



(式中、 R^1 、 X^1 および X^2 は前記と同じ意味をもつ)
 10 で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-
 6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフ
 ルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを
 生成し、次いで式(IV)の化合物からイミノ保護基(R^1)
 があれば、これを脱離し、且つヒドロキシル保護基(X^1 ,
 15 X^2)を脱離することから成ることを特徴とする、次式
 (I)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B の製造法が提供される。

- 5 第 4 の本発明の方法を実施するには、先ず、式 (II) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を、メタノールなどの溶媒に溶かすか、または無溶媒でヒドラジンを加えて室温でヒドラジン分解反応させる。
- 10 これにより、式 (II) の化合物の N-アセチル基が脱離されて遊離のアミノ基が生じ、式 (III) で表される N-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-N-デアセチル-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。
- 15 次いで式 (III) の化合物を N, N'-ジメチルホルムアミド等の溶媒中で N, N'-ジイソプロピルエチルアミン等の塩基の存在下にエチルトリフルオロアセテートと反応させるか、塩化メチレン等の溶媒中で、ピリジン等の塩基の存在下に無水トリフルオロ酢酸と反応させる。
- 20 これにより式 (III) の化合物の遊離のアミノ基がトリフルオロアセチル化され、式 (IV) で表される N-保護ま

たは非保護-4, 5-オ-保護-6-デアセタミド-3-
-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフル
オロアセタミドシアスタチンBを生成する。さらに式(I
5 離すると、目的の式(I)で示される6-デアセタミド
-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリ
フルオロアセタミドシアスタチンBが製造される。

なお、式(IV)の化合物から、イミノ保護基(R^1)
ならびにヒドロキシル保護基(X^1 , X^2)を脱離するに
10 当って、その場合の脱離反応は保護基の種類に応じて適
当な方法、例えば加水分解法又は加水素分解法により常
法で行い得る。例えば、イミノ保護基(R^1)がターシ
ャリーブトキシカルボニル基(Boc)である場合には、
上記の式(IV)の化合物を、1~4N塩酸-ジオキサン
15 などの、塩化水素を含む有機溶媒に溶解し、その溶液を
室温に1~12時間放置してイミノ基保護基Bocを除去す
ることができる。そしてヒドロキシル保護基(X^1 , X^2)
がベンジリデン基である場合には、10%パラジウム炭素
の存在下に水素雰囲気中で加水素分解にかけることによ
20 り除去することができる。

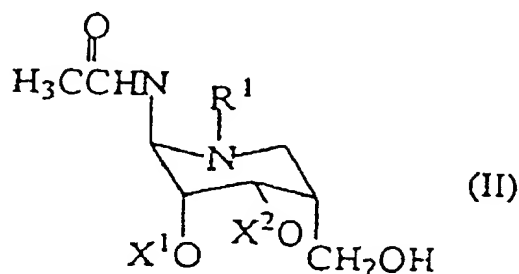
次に、第2の本発明による式(V)の3-デカルボキシ
-4-エピー-3-ヒドロキシメチルシアスタチンBの製
造法を説明する。

第2の本発明による式(V)の3-デカルボキシ-4

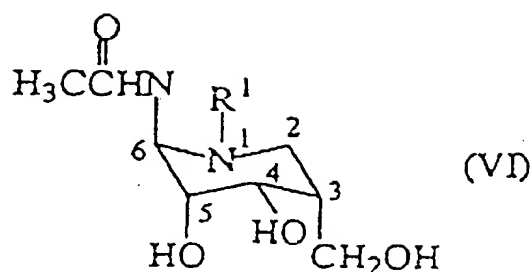
ーエピー 3ーヒドロキシメチルシアスタチン B を製造する
 には、最初の原料として、前記の一般式 (II) で表され
 る Nー保護または非保護ー4, 5ーOー保護ー3ーヒド
 ロキシメチルー3ーデカルボキシシアスタチン B を第 4
 5 の本発明方法と同様に用いる。

式 (II) の化合物を出発化合物として用いて、これを
 複数の工程で化学的に変換することにより、式 (V) の
 3ーデカルボキシー4ーエピー 3ーヒドロキシメチルシ
 アスタチン B が製造できる。

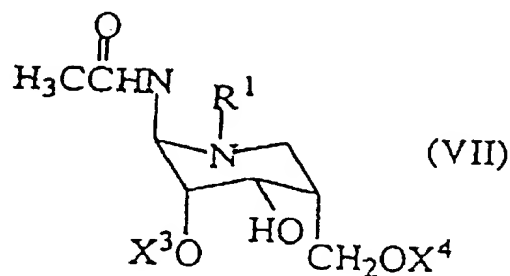
10 すなわち、第 5 の本発明においては、次式 (II)



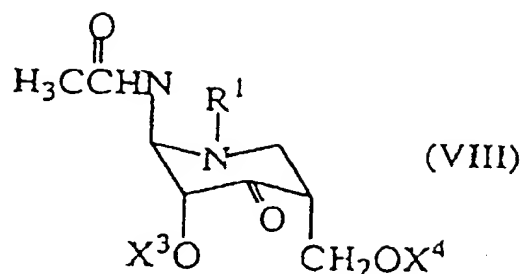
(式中、R¹ は水素原子またはイミノ保護基であり、X¹
 と X² はそれぞれに 1 価のヒドロキシル保護基であるか、
 あるいは X¹ と X² は両者が共同して 2 価のヒドロキシ
 15 ル保護基 1 個を示す) で表される Nー保護または非保護
 ー4, 5, ーOー保護ー3ーヒドロキシメチルー3ーデ
 カルボキシシアスタチン B からヒドロキシル保護基
 (X¹ と X²) を脱離して、次の一般式 (VI)



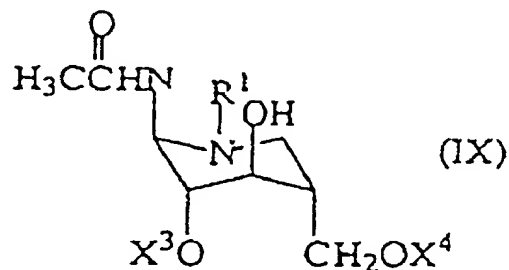
(式中、 R^1 は前記と同じ意味をもつ)で表されるN-保護または非保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VI)の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式(VII)



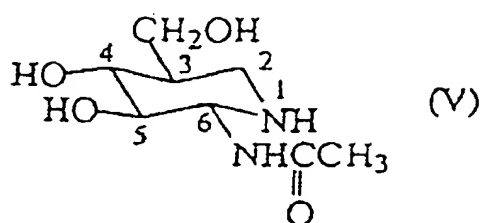
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^3 と X^4 はそれぞれヒドロシル保護基を示す)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VII)の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式(VIII)



(式中、 R^1 、 X^3 および X^4 は前記と同じ意味をもつ)
 で表されるN-保護または非保護-4-ケト-5-O-
 保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシ
 5 アスタチンBを生成し、次いで式(VIII)の化合物の4
 位ケト基を還元して、次の一般式(IX)



(式中、 R^1 、 X^3 および X^4 は前記と同じ意味をもつ)
 で表されるN-保護または非保護-4-エピ-5-O-
 10 保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシ
 アスタチンBを生成し、次いで式(IX)の化合物からイ
 ミノ保護基(R^1)があれば、これを脱離し、且つヒド
 ロキシル保護基(X^3 、 X^4)を脱離することから成るこ
 とを特徴とする、次式(V)



で表される 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B の製造法が提供される。

第 5 の本発明の方法を実施するには、先ず、式 (II) で表される N-保護または非保護-4, 5-0-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を、溶媒中で、酢酸や塩酸などの酸または水酸化ナトリウムや炭酸カリウムなどの塩基を作用させて加水分解反応や、あるいはパラジウムおよびラネーニッケル等の触媒下に加水素分解反応させる。これにより、式 (II) の化合物のヒドロキシル保護基 (X^1 および X^2) が脱離されて遊離のヒドロキシル基に転化され、式 (VI) で表される N-保護または非保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成する。

15 次いで上記の式 (VI) の化合物を N, N'-ジメチル
ホルムアミド、塩化メチレン、クロロホルム、テトラヒ
ドロフラン等の溶媒中で、イミダゾール、ジイソプロピ
ルエチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン等の塩基
の存在下にターシャリーブチル・ジメチルシリルクロリ
20 ド、トリメチルシリルクロリド等のハロゲン化アルキル
シランや、メトキシエトキシメチルクロリド、メトキシ

メチルクロリド等のハロゲン化アルコキシアルキルや、ハロゲン化アルキルや、ハロゲン化アラルキルや、アセチルクロリド等の酸塩化物等と反応させる。これにより、式(VI)の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基が保護され、式(VII)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。

次いで式(VII)の化合物の4位水酸基を塩化メチレン、四塩化炭素、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、四酸化ルテニウム、ピリジニウムクロクロメート、ピリジニウムジクロメート、二酸化マンガン、デスーマーチン・バーヨーディナン等の酸化剤で酸化する。これにより一般式(VIII)で表されるN-保護または非保護-4-ケト-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。次いで式(VIII)の化合物の4位ケト基を塩化メチレン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、リチウムボロハイドライド、ソデウムボロハイドライド、リチウムアルミニウムハイドライド等の金属ハイドライドとの反応や、パラジウム、ラネーニッケル等の触媒の存在下に水素添加して還元する。これにより、一般式(IX)で表されるN-保護または非保護-4-エピ-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。次いで式(IX)の化合物からイミノ保護基

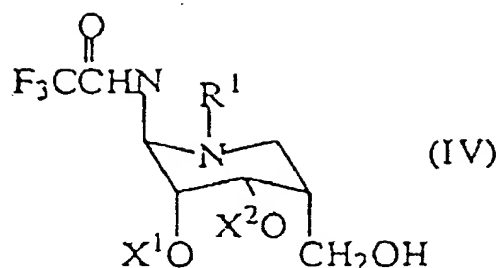
(R¹)があれば酸や塩基処理および加水素分解等の通常の方法でこれを脱離し、且つヒドロキシル保護基(X³、X⁴)を酸や塩基処理および加水素分解等の通常の方法で脱離すると、目的の式(V)の3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチンBが製造される。

次に、第3の本発明による式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBの製造法を説明する。

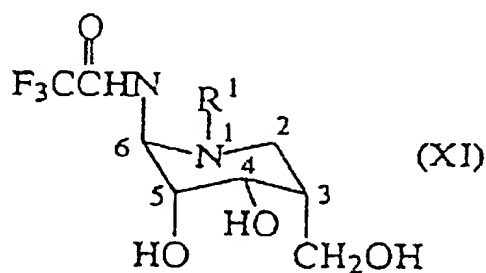
式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBを製造するには、第5の本発明方法で中間体として得られた前記の一般式(IV)で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを最初の原料として用いる。

上記の式(IV)の化合物を出発化合物として、これを複数の工程で化学的に変換することにより、式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBを製造できる。

すなわち、第6の本発明においては、次の一般式(IV)

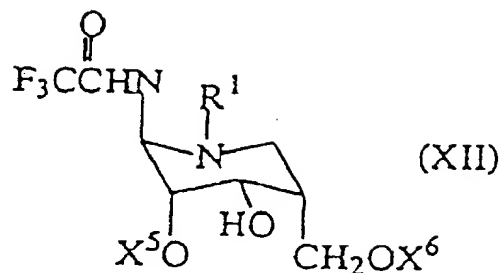


(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^1 と X^2 はそれぞれ1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは X^1 と X^2 は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す)で表されるN-保護または非保護-4,5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを用意し、次いで式(IV)の化合物からヒドロキシル保護基(X^1 と X^2)を脱離して、次の一般式(XI)

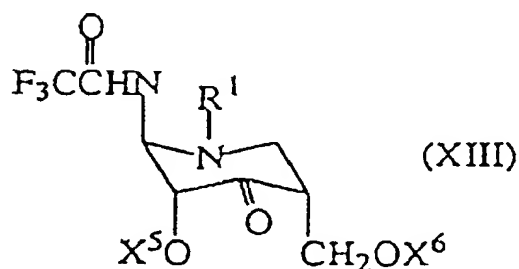


(式中、 R^1 は前記と同じ意味をもつ)で表わされるN-保護または非保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(XI)の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基を保護し

て、次の一般式 (XII)



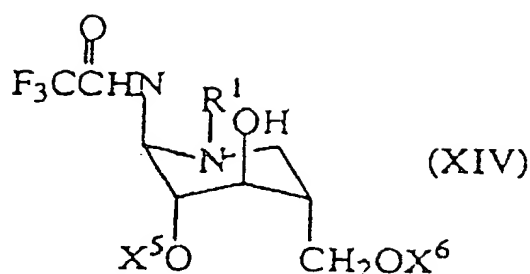
(式中、R¹は水素原子またはイミノ保護基であり、X⁵とX⁶はそれぞれヒドロキシル保護基を示す) で表わされるN-保護または非保護-5-O-保護-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (XII) の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式 (XIII)



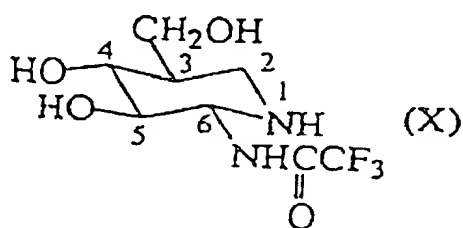
10

(式中、R¹、X⁵およびX⁶は前記と同じ意味をもつ) で表わされるN-保護または非保護-5-O-保護-4-ケト-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式 (XIII) の化合物の4位ケト基を還元して、次の一般式 (XIV)

15



(式中、 R^1 、 X^5 および X^6 は前記と同じ意味をもつ)
 で表わされる N-保護または非保護-5-O-保護-4-
 エピ-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル
 5 -6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシア
 スタチン B を生成し、次いで (XIV) の化合物からイミノ
 保護基 (R^1) があればこれを脱離し、且つヒドロキシ
 ル保護基 (X^5 、 X^6) を脱離することから成ることを特
 徴とする、次式 (X)



10

で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-
 エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタ
 ミドシアスタチン B の製造法が提供される。

第 6 の本発明方法を実施するには、式 (IV) の N-保
 15 護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド
 -3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド
 -3-デカルボキシシアスタチン B を溶媒中で、酢酸や

- 塩酸等の酸または水酸化ナトリウムや炭酸カリウム等の塩基を作用させて加水分解反応や、またはパラジウムおよびラネーニッケル等の触媒下に加水素分解反応させる。これにより式(IV)の化合物のヒドロキシル保護基(X^1 と X^2)が脱離され、保護されていたヒドロキシル基が遊離のヒドロキシル基に転化される。これにより、一般式(XI)で表されるN-保護または非保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。
- 10 式(XI)の化合物をN, N'-ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、クロロホルム、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、イミダゾール、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン等の塩基の存在下にターシャリーブチル・ジメチルシリルクロリド、トリメチルシリルクロリド等のハロゲン化アルキルシランや、メトキシエトキシメチルクロリド、メトキシメチルクロリド等のハロゲン化アルコキシアルキルやハロゲン化アルキルや、ハロゲン化アラルキルやアセチルクロリド等の酸塩化物と反応させる。これにより、式(XI)の化合物の3
- 15 20 位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基が保護され、一般式(XII)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。

次いで式(XII)の化合物の4位水酸基を塩化メチレン、四塩化炭素、テトラヒドロフラン等の溶媒中で、四酸化ルテニウム、ピリジニウムクロクロメート、ピリジニウムジクロメート、二酸化マンガン、デスーマーチン・パーヨードィナン試薬、等の酸化剤で酸化する。これにより一般式(XIII)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-4-ケト-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。

10 次いで式(XIII)の化合物の4位ケト基を塩化メチレン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン等の溶媒中、リチウムボロハイドライド、ソデウムボロハイドライド、リチウムアルミニウムハイドライド等の金属ハイドライドや、パラジウム、ラネーニッケル等の触媒の存在下に
15 水素添加して還元する。これにより、一般式(XIV)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-4-エピ-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成する。

20 次いで(XIV)の化合物から、イミノ保護基(R^1)があれば酸や塩基処理または加水素分解等の通常の方法でこれを脱離し、且つヒドロキシル保護基(X^5 、 X^6)を酸や塩基処理および加水素分解等の通常の方法で脱離すると、式(X)で表される6-デアセタミド-3-デカ

ルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリ
フルオロアセタミドシアスタチン B が製造される。

第 4、第 5 および第 6 の本発明の方法でそれぞれに得
られた式 (I)、(V) および (X) の化合物が塩酸塩
5 などの酸付加塩の形で得られる場合には、その酸付加塩
の水溶液を常法により陽イオン交換樹脂、例えばダウエ
ックス 50W (米国ダウケミカル社製) (H^+ 型) で処理
することにより、またはアンモニアを含有する溶媒系に
よるクロマトグラフィーで精製することにより、遊離塩
10 基の形の式 (I)、(V) および (X) の化合物が得ら
れる。

さらに、前記した試験例 1 ~ 5 から明らかなように、
本発明による新規化合物である式 (I) の 6-デアセタ
ミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-
15 トリフルオロアセタミドシアスタチン B、または式 (V)
の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル
シアスタチン B、または式 (X) の 6-デアセタミド-
3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-
6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B は、いずれ
20 もグリコシダーゼ阻害活性を示す。従って、これら新規
なシアスタチン B 誘導体の各々はグリコシダーゼ阻害活
性を利用して、たとえば癌細胞の転移抑制剤として有用
であり、また糖尿病および肥満の治療もしくは予防に有
用である。そして、本発明による新規シアスタチン B 誘

導体は慣用される製薬学的に許容できる固体または液体状の担体と混和されて医薬組成物に調合できる。

従って、第7の本発明においては、有効成分として、前記の式(I)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアシタチンBまたは式(V)の3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアシタチンBまたは式(X)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアシタチンB、あるいはその製薬学的に許容される塩を、製薬学上許容し得る担体とともに含んでなる医薬組成物が提供される。

第7の本発明による医薬組成物はグリコシダーゼ阻害活性を有し、ヒトを含む動物に医薬として投与することができる。具体的には第7の本発明の医薬組成物は癌の治療、あるいは糖尿病および肥満の治療もしくは予防に効果がある。

第7の本発明による医薬組成物において、配合される担体は製薬学技術で慣用される固体または液体状の担体であることができる。固体状担体は例えば、デンプン、乳糖、結晶セルロース、炭酸カルシウムであることができる、また液体状担体は例えば生理食塩水、含水エタノールまたはエタノールであることができる。本組成物における有効成分としての新規シアシタチンB誘導体の含量

は、疾病を治療するのに十分な量であれば特に限定されないが、例えば組成物全体の重量に基づいて0.01%以上100%未満、好ましくは0.1%以上80%以下の範囲であることができる。

- 5 第7の本発明による医薬組成物は、これを投与する場合、種々の使用担体、投与形態あるいは使用形態に合わせて、常法に従い製剤化される。経口投与のための製剤としては、錠剤、丸剤、顆粒剤、カプセル剤、散剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤、舌下剤等が挙げられる。また
- 10 非経口投与のための製剤としては、注射剤、経皮吸収剤、吸入剤、坐剤等が挙げられる。製剤化に際しては、界面活性剤、賦形剤、安定化剤、湿潤剤、崩壊剤、溶解補助剤、等張剤、緩衝剤、着色料、着香料等の医薬用添加剤を適宜使用する。
- 15 医薬としての本発明の新規シアスタチンB誘導体の投与量は、患者の年齢、体重、疾病の種類や程度、投与経路により異なるが、ヒトに経口投与する場合には成人一人当たり一日に1.0～1000mg/kgの範囲であり、また静脈投与の場合には同じく1.0～100 mg/kgの範囲内で投与す
- 20 る。

さらに、第8の本発明においては、前記の式(I)の6-デアセタミド-3-デカルボキシー-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBまたは式(V)の3-デカルボキシー-4-エピー-3-ヒド

ロキシメチルシアスタチン B または式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B、あるいはその製薬学的に許容される塩よりなるグリコシダーゼ阻害剤が提供される。第 8 の本発明によるグリコシダーゼ阻害剤では、前記したシアスタチン B 誘導体の各々、あるいはその塩がそのまま単独に使用でき、例えば酵素に対する試薬として利用できる。

さらにまた、第 9 の本発明は、式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B または式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチルシアスタチン B または式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B、あるいはその製薬学的に許容される塩を、医薬組成物の製造に用いる使用を含有する。

発明を実施するための最良の形態

以下に、第 4 の本発明方法で用いる式 (II) の出発化合物の 1 例である N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-O-ベンジリデン-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B (化合物 IIa) の製造例を例示する参考例 1 を示す。また、第 1、第 2 および第 3 の本発明による式 (I)、(V) および (X) の

化合物の製造を例示する実施例 1, 2 および 3 を示して本発明を具体的に説明する。

しかしながら、これら実施例は単に例示であって、本発明を限定するものではない。本発明の範囲内で種々の
5 変形および修正が可能であることは言うまでもない。

参考例 1

N - (ターシャリーブトキシカルボニル) - 4, 5 -
O - ベンジリデン - 3 - ヒドロキシメチル - 3 - デカル
ボキシシアスタチン B (化合物 IIa) の製造

10 「Carbohydrate Research」 第286巻、173～178頁
(1996) に記載の佐藤らの方法によって製造される N -
(ターシャリーブトキシカルボニル) - 4, 5 - ベンジ
リデンシアスタチン B (5.60g, 13.8mmol) を N, N - ジ
メチルホルムアミド (DMF) (10 ml) に溶解し、その溶
15 液に N, N - ジイソプロピルエチルアミン (4.80ml,
27.6mmol) および塩化 2 - メトキシエトキシメチル
(3.15ml, 27.6mmol) を加えた。得られた混合物を室温で
12時間攪拌した。

反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加
20 え、飽和食塩水にて 2 回洗浄した。有機層を無水硫酸マ
グネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮し
た後、残留物を展開溶媒としてクロロホルム - メタノー
ル (19 : 1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフ
ィーで精製し、無色泡状の N - (ターシャリーブトキシ

カルボニル) - 4, 5 - O - ベンジリデンシアスタチン
B メトキシエトキシメチルエステル 6.65g (98%) を得た。
比旋光度、 $[\alpha]^{28}_D + 22.1^\circ$ (c 0.91, メタノール)。

本化合物 (6.50g, 13.1mmol) をテトラヒドロフラン
5 (100ml) と 2, 2, 2 - トリフルオロエタノール (10ml)
の混合溶媒に溶解し、これに水素化ホウ素ナトリウム
(995mg, 26.3mmol) を加えた。得られた混合物を室温で
1 時間攪拌して還元反応を行った。その後、反応溶液に
水 (30ml) を加えて反応を停止させ、さらに室温で 30 分
10 間攪拌した。得られた反応溶液を減圧濃縮した後、残留
物に水を加えクロロホルムで 2 回抽出した。有機層を合
わせ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。
ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてクロロ
ホルム - メタノール (19 : 1) を用いるシリカゲルカラ
ムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物
15 (化合物 IIa) 4.87g (94%) を得た。

比旋光度 : $[\alpha]^{27}_D + 87.3^\circ$ (c 0.93, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm) : 1.47
(9H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.99 (3H, s,
20 - NHCOCH_3), 2.17 (1H, t, $J = 5.4\text{Hz}$,
- CH_2OH), 2.18 ~ 2.30 (1H, m, 5-H),
3.31 (1H, br t, $J = 12.5\text{Hz}$, 6-H_{ax}), 3.51 (1H,
dd, $J = 12.5$, 4.2Hz, 6-H_{eq}), 3.72 ~ 3.87 (2H,
m, - CH_2OH), 4.59 (1H, dd, $J = 7.6$, 2.2

H₂, 3-H), 4.63~4.73 (1 H, m, 4-H), 5.73
(1 H, s, =C_HPh), 5.89 (2 H, brs, 2-H
and -N_HCOCH₃), 7.34~7.44 (5 H, m, Ph)

I R スペクトル (CHCl₃) : 3450, 3000, 1680,
5 1390, 1370, 1170, 1090, 1070 cm⁻¹

マススペクトル (FAB-MS): m/z 393.3 (M+H)⁺,
337.3, 234.2, 154.1, 136.1, 57.1

次に第4の本発明方法の実施例を示す。

実施例 1

10 (1) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4,
5-O-ベンジリデン-6-N-デアセチル-3-ヒド
ロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンB (化合
物 IIIa) の製造

参考例1の製造法で得られた化合物 IIa (3.0g,
15 7.64mmol) をヒドラジン水和物 (H₂NNH₂ · x H₂O,
30ml) に溶解し、70℃で7日間攪拌した。反応溶液を室
温まで冷却した後、反応溶液を減圧濃縮した。残留物に
水を加えクロロホルムで3回抽出した。有機層を合わせ、
無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を
20 減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒として酢酸エチル-
メタノール (19:1) を用いるシリカゲルカラムクロマ
トグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物 (化合物
IIIa) 1.07g (40%) を得た。またこのとき、未反応の
化合物 IIa を 1.56g (52%) 回収した。

比旋光度: $[\alpha]^{28}_D + 25.7^\circ$ (c 0.81, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm): 1.49
(9 H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 2.54~2.64 (1 H, m, 5-H), 3.36 (1 H, br t, $J = 12.5 \text{ Hz}$,
5 6-H_{ax}), 3.48 (1 H, dd, $J = 12.2, 5.4 \text{ Hz}$, 6-H_{eq}), 3.79 (2 H, d, $J = 5.9 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$),
4.36 (1 H, dd, $J = 8.1, 1.7 \text{ Hz}$, 3-H), 4.62
(1 H, dd, $J = 8.1, 2.7 \text{ Hz}$, 4-H), 5.27 (1 H, br s, 2-H), 5.74 (1 H, s, CHPh),
10 7.26~7.46 (5 H, m, Ph)

IR スペクトル (CHCl_3): 3400, 2970, 1685, 1460, 1410, 1370, 1170, 1090, 1070 cm^{-1}

マススペクトル (FAB-MS): m/z 351.2 ($\text{M}+\text{H}^+$), 334.2, 234.2, 154.1, 136.1, 57.1

15 (2) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-4, 5-オ-ベンジリデン-6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B (化合物 IVa) の製造

実施例 1, (1) で得られた化合物 IIIa (3.0g,
20 8.56mmol) を N, N-ジメチルホルムアミド (30ml) に溶解し、これに N, N-ジイソプロピルエチルアミン (14.8ml, 85.6mmol) およびトリフルオロ酢酸エチル (10.2ml, 85.6mmol) を加えた。得られた混合物を 60°C で 15 時間攪拌した。

反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酢酸エチル
5 (1:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物(化合物IVa) 2.77g (73%)を得た。

比旋光度: $[\alpha]^{28}_D +67.7^\circ$ (c 0.96, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm):
10 1.47 (9H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.95 (1H, t, $J=5.4\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 2.12~2.23 (1H, m, 5-H), 3.31 (1H, br t, $J=12.5\text{Hz}$, 6-H_{ax}), 3.59 (1H, dd, $J=12.2, 3.9\text{Hz}$, 6-H_{eq}), 3.77~3.90 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 4.62~4.73 (2H, m, 3-H and 4-H), 5.76 (1H, s, $=\text{CHPh}$),
15 5.94 (1H, brs, 2-H), 6.65 (1H, brs, $-\text{NHCOCF}_3$), 7.36~7.46 (5H, m, Ph)

IR スペクトル (CHCl_3): 3440, 2980, 1740, 1705, 1395, 1370, 1165, 1090, 1070 cm^{-1}

20 マススペクトル (FAB-MS): m/z 447.2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 391.1, 234.2, 154.1, 128.1, 57.1

(3) 式(I)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチンBの塩酸塩の製造

(i) 実施例 1, (2) で得られた化合物 IVa (2.50g, 5.60mmol) をメタノール (200ml) に溶解し、これに 10% パラジウム炭素 (1.25g) を加えて、水素雰囲気下、室温で 16 時間攪拌してベンジリデン基の脱離反応を行った。

5 10% パラジウム炭素をセライトろ過して除いた後、ろ液を減圧濃縮した。残留物を展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (19:1) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-6-デアセタミド-3-デカルボキシー-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B (化合物 XIa) 1.85g (92%) を得た。

化合物 XIa の理化学的性状

比旋光度: $[\alpha]^{28}_D + 45.7^\circ$ (c 0.59, メタノール)

15 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm): 1.48 (9H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.87~1.96 (1H, m, 5-H), 2.43 (1H, t, $J = 5.4\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{CH}$), 3.21 (1H, d, $J = 3.4\text{Hz}$, 4-OH), 3.29 (1H, m, 3-OH), 3.49 (1H, dd, $J = 14.2$, 8.8 Hz, 6-H_{ax}), 3.60 (1H, dd, $J = 14.2$, 4.4 Hz, 6-H_{eq}), 3.77~3.90 (3H, m, $-\text{CH}_2\text{OH}$ and 3-H), 4.29 (1H, dd, $J = 6.8$, 3.4 Hz, 4-H), 5.55 (1H, br t, $J = 8.3\text{Hz}$, 2-H)

IR スペクトル (CHCl_3): 3375, 2980, 1730,

1685, 1540, 1410, 1370, 1250, 1170 cm^{-1}

マススペクトル (FAB-MS): m/z 359.2 ($M+H$)⁺,
307.2, 303.2, 289.2, 154.1, 138.1, 107.1, 57.1

(ii) こうして得られた化合物 XIa (70mg, 0.195mmol)
5 をジクロロメタン (1 ml) に溶解し、これに 4 N 塩化水
素—ジオキサン溶液 (0.25ml) を加え室温で 30 分間攪拌
した。N—ターシャリーブトキシカルボニル基が脱離さ
れた。無色固体が析出して懸濁した反応溶液にジエチル
エーテルを加えてよく攪拌した後、析出した無色固体を
10 遠心分離によって沈澱させ、上澄みを除いた。得られた
沈澱を減圧乾燥させ、無色固体の表題化合物〔式 (I)
の化合物〕 41mg (80%) を得た。

次に第 5 の本発明方法の実施例を示す。

実施例 2

15 (1) N—(ターシャリーブトキシカルボニル)—3—
デカルボキシ—3—ヒドロキシメチルシアスタチン B
(化合物 VIa) の製造

参考例 1 の製造法で得られた化合物 IIa (1.20g,
3.06mol) をメタノール (120ml) に溶解し、その溶液に 10%
20 パラジウム炭素 (500mg) を加え水素雰囲気下、室温で 6
時間攪拌してベンジリデン基の脱離反応を行った。10%
パラジウム炭素をセライトろ過して除いた後、ろ液を減
圧濃縮した。残留物を展開溶媒としてクロロホルム—メ
タノール (3 : 2) を用いるシリカゲルカラムクロマト

グラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物（化合物 VI a）877mg（94%）を得た。

比旋光度： $[\alpha]^{25}_D + 50.5^\circ$ （c 0.49, メタノール）
エタノールーエチルエーテルから結晶された無色針状晶
5 は201～202°Cの融点（分解）を示した。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル（ CDCl_3 , δ ppm）：1.45
（9 H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ ）, 1.91～1.98（1 H,
m, 5-H）, 1.96（3 H, s, $-\text{NHCOCH}_3$ ）,
3.10（1 H, dd, $J = 14.2, 3.4$ Hz, 6-H_{ax}）,
10 3.71（1 H, dd, $J = 5.4, 2.4$ Hz, 3-H）, 3.73
（1 H, dd, $J = 11.2, 8.1$ Hz, $-\text{CH}_2\text{OH}$ ）, 3.80
（1 H, dd, $J = 11.2, 3.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{OH}$ ）,
3.99（1 H, dd, $J = 5.4, 3.2$ Hz, 4-H）, 4.14
（1 H, d, with a small coupling, $J = 14.2$ Hz,
15 6-H_{eq}）, 5.99（1 H, d, $J = 2.4$ Hz, 2-H）

IR スペクトル（KBr）：3290, 2980, 2920, 1710,
1670, 1650, 1540, 1430, 1270, 1160, 1100, 1010,
960 cm^{-1}

マスマスペクトル（FAB-MS）： m/z 305.3（ $\text{M} + \text{H}$ ）⁺,
20 289.2, 249.2, 154.1, 146.2, 136.1, 107.1, 57.1

（2）N-（ターシャリーブトキシカルボニル）-5-
O-（ターシャリーブチルジメチルシリル）-3-（タ
ーシャリーブチルジメチルシリルオキシ）メチル-3-
デカルボキシシアスタチン B（化合物 VIIa）の製造

前項 (1) で得られた化合物 VIa (2.20g, 7.23mmol) を N, N-ジメチルホルムアミド (DMF) (30ml) に溶解し、この溶液にイミダゾール (3.44g, 50.6mmol) およびターシャリーブチルジメチルシリルクロライド (3.81g, 25.3mmol) を加え、室温にて16時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒とし n-ヘキサン-酢酸エチルを用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色油状の表題化合物 (化合物 VIIa) 1.89g (49%) を得た。

比旋光度: $[\alpha]^{23}_D + 37.3^\circ$ (c 1.03, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm): 0.05, 0.10 and 0.14 (6H, 3H and 3H, each s, $(\text{CH}_3)_2$ of t-butyldimethylsilyl), 0.89 and 0.94 (each 9H, each s, $(\text{CH}_3)_3$ of t-butyldimethylsilyl), 1.46 (9H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.73~1.82 (1H, m, 5-H), 2.04 (1H, s, NHCOCH_3), 2.76 (1H, d, $J = 6.8\text{Hz}$, -OH), 3.28~3.37 (1H, m, 6-H_{ax}), 3.52~3.63 (4H, m, -CH₂OTBDMS, 3-H and 6-H), 4.14 (1H, br t, $J = 2.9\text{Hz}$, 4-H), 5.58 (1H, br t, $J = 8.1\text{Hz}$, 2-H), 7.40 (1H, br s, -NH)

IR スペクトル (CHCl_3): 3400, 2950, 2930,

2860, 1680, 1500, 1470, 1410, 1380, 1260, 1160,
1100, 840 cm^{-1}

マススペクトル (F A B - M S) : m/z 533.3 ($M+H$)⁺,
474.3, 374.3, 316.2, 242.2, 171.2, 73.1, 57.1

5 (3) N - (ターシャリーブトキシカルボニル) - 5 -
O - (ターシャリーブチルジメチルシリル) - 3 - (ター
シャリーブチルジメチルシリルオキシ) メチル - 3 -
デカルボキシ - 4 - ケトシアスタチン B (化合物 VIIIa)
の製造

10 前項 (2) で得られた化合物 VIIa (640mg, 1.20mmol)
を無水ジクロロメタン (30ml) に溶解し、その溶液に対
して、文献記載の方法 (J. Am. Chem. Soc. 1991, 113,
7277~7287; J. Org. Chem. 1993, 58, 2899) に従って
調製したデスーマーチン酸化試薬 (764mg, 1.80mmol)
15 を加え室温にて 2 時間攪拌した。反応溶液をクロロホル
ムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和後分
液した。有機層を水洗後、無水硫酸マグネシウムで乾燥
し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮後、残留物を展開溶媒と
して n - ヘキサン - 酢酸エチル (3 : 1) を用いるシリ
20 カゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の
表題化合物 (化合物 VIIIa) 628mg (98%) を得た。

比旋光度 : $[\alpha]^{28}_D +45.0^\circ$ (c 0.84, メタノール)

¹H - NMR スペクトル (CDCl₃, δ ppm) : 0.06,
0.07 and 0.10 (6H, 3H, and 3H, each s, (CH₃)₂

of t-butyldimethylsilyl), 0.88 and 0.89 (each 9H, each s, (CH₃)₃ of t-butyldimethylsilyl), 1.47 (9H, s, COOC(CH₃)₃), 1.98 (3H, s, NHCOCH₃), 2.53~2.62 (1H, m, 5-H), 3.62 (1H, br t, J = 9.8 Hz, 6-H_{ax}), 3.97 (2H, m, 6-H_{eq} and -CH₂OTBDMS), 4.08 (1H, dd, J=13.7, 4.9 Hz, -CH₂OTBDMS), 4.73 (1H, br s with a small coupling, 3-H), 5.14 (1H, br s, 2-H), 6.31 (1H, br s, -NH)

10 IR スペクトル (CDCl₃): 3430, 2950, 2930, 2860, 1740, 1680, 1480, 1410, 1260, 1160, 1100, 840 cm⁻¹

マスマスペクトル (FAB-MS): m/z 531.4 (M+H)⁺, 472.3, 416.3, 372.3, 358.2, 314.3, 186.2, 73.1,

15 57.1

(4) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-3-デカルボキシ-4-エピアスタチン B (化合物 IXa) の製造

20 前項 (3) で得られた化合物 VIIIa (106mg, 0.20mmol) を無水アセトニトリル (5 ml) に溶解し、その溶液に -50℃ にて水素化ホウ素リチウム (8.7mg, 0.40mmol) を加え 30 分間攪拌した。反応溶液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止させた後、クロロホルム 20ml で

希釈し分液した。有機層を水洗した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒として *n*-ヘキサノール酢酸エチル (5 : 3) を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、無色泡状の表題化合物 (IXa) 79mg (74%) を得た。

比旋光度 : $[\alpha]^{26}_D + 24.2^\circ$ (c 0.73, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm) : 0.05, 0.06, 0.10 and 0.14 (each 3H, each s, $(\text{CH}_3)_2$ of *t*-butyldimethylsilyl), 0.89 (18H, s, $(\text{CH}_3)_3$ of *t*-butyldimethylsilyl), 1.47 (9H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.78~1.87 (1H, m, 5-H), 1.97 (3H, s, $-\text{NHCOCH}_3$), 2.22 (1H, d, $J = 2.4\text{Hz}$, -OH), 3.41 (1H, br d, $J = 13.2\text{Hz}$, 6-H), 3.58~3.69 (1H, m, 6-H), 3.61 (1H, dd, $J = 10.3, 5.4\text{Hz}$, $-\text{CH}_2\text{OTBS}$), 3.69 (1H, br t, $J = 4.2\text{Hz}$, 3-H), 3.75 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{OTBS}$ and 4-H), 5.74 (1H, br s, 2-H), 7.07 (1H, d, $J = 8.3\text{Hz}$, -NH)

IR スペクトル (CHCl_3) : 3400, 2960, 2940, 2860, 1680, 1510, 1470, 1370, 1260, 1100, 840cm^{-1}

マススペクトル (FAB-MS) : m/z 533.5

$(\text{M}+\text{H})^+$, 477.4, 374.3, 316.3, 186.2, 73.1, 57.1

(5) 式 (V) の 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒ

ドロキシメチルシアスタチン B の塩酸塩の製造

前項 (4) で得られた化合物 IXa (20mg, 0.0375mmol) を無水ジオキサン (1ml) に溶解し、これに 4 N 塩化水素 - ジオキサン 溶液 (0.2ml) を加え室温で 2 時間攪拌した。

- 5 無色固体が析出して懸濁した反応溶液にジエチルエーテルを加えてよく攪拌した後、析出した無色固体を遠心分離によって沈殿させ上澄みを除いた。得られた沈殿を減圧乾燥させ、無色固体の表題化合物 [式 (V) の化合物] 7.2mg (80%) を得た。

- 10 次に第 6 の本発明方法の実施例を示す。

実施例 3

- (1) N - (ターシャリーブトキシカルボニル) - 5 -
O - (ターシャリーブチルジメチルシリル) - 3 - (ター
シャリーブチルジメチルシリルオキシ) メチル - 6 -
15 デアセタミド - 3 - デカルボキシー - 6 - トリフルオロア
セタミドシアスタチン B (化合物 XIIa) の製造

- 実施例 1、(3)(i)において、中間体化合物として得
られた化合物 XIaすなわち N - (ターシャリーブトキシ
カルボニル) - 6 - デアセタミド - 3 - デカルボキシー
20 3 - ヒドロキシメチル - 6 - トリフルオロアセタミドシ
アスタチン B (1.30g, 3.63mmol) を N, N - ジメチルホ
ルムアミド (DMF) (25ml) に溶解した。その溶液に
イミダゾール (1.73g, 25.4mmol) およびターシャリーブ
チルジメチルシリルクロライド (1.91g, 12.7mmol) を加

え、室温にて16時間攪拌した(オーシリル化反応)。反応溶液を減圧濃縮した後、残留物に酢酸エチルを加え飽和食塩水で2回洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサン-酢酸エチル(9:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色針状結晶の表題化合物(化合物XIIa) 1.23g (58%)を得た。

比旋光度: $[\alpha]^{28}_D + 42.5^\circ$ (c 0.96, メタノール)

10 融点: 88~90°C

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm): 0.06, 0.11 and 0.12 (6 H, 3 H and 3 H, each s, $(\text{CH}_3)_2$ of t-butyldimethylsilyl), 0.89 and 0.90 (each 9 H, each s, $(\text{CH}_3)_3$ of t-butyldimethylsilyl), 1.47 (9 H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.83~1.93 (1 H, m, 5-H), 2.69 (1 H, br s, -OH), 3.20 (1 H, br t, $J=13.7\text{ Hz}$, 6-H_{ax}), 3.63 (1 H, dd, $J=10.3, 7.8\text{ Hz}$, - CH_2 T B D M S), 3.69 (1 H, dd, $J=13.7, 3.9\text{ Hz}$, 6-Heq), 3.75~3.82 (2 H, m, - CH_2 T B D M S and 3-H), 3.98 (1 H, br d, $J=2.4\text{ Hz}$, 4-H), 5.47 (1 H, br t, $J=8.8\text{ Hz}$, 2-H)

I R スペクトル (CHCl_3): 3560, 3350, 2950,

2930, 2860, 1730, 1680, 1530, 1460, 1410, 1370,
1250, 1160, 1090, 950, 840 cm^{-1}

マススペクトル (FAB-MS): m/z 587.4 ($M+H$)⁺,
531.4, 487.4, 473.3, 374.4, 316.3, 242.3, 186.2,
5 73.1, 57.1

(2) N-(ターシャリーブトキシカルボニル)-5-
O-(ターシャリーブチルジメチルシリル)-3-(
ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ)メチル-6-
デアセタミド-3-デカルボキシ-4-ケトシアスタチ
10 N B (化合物XIIIa)の製造

前項(1)で得られた化合物 XIIa (190mg, 0.324mmol)
を無水ジクロロメタン (10ml) に溶解した。この溶液に
デスーマーチン酸化試薬 (275mg, 0.648mmol)を加え室温
にて1時間攪拌した(4位水酸基の酸化反応)。反応溶
15 液をクロロホルムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水
溶液で中和後に分液した。有機層を水洗後、無水硫酸マ
グネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮後、残
留物を展開溶媒としてn-ヘキサナー酢酸エチル(7:
1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精
20 製し、無色針状結晶の表題化合物(化合物XIIIa) 183mg
(97%)を得た。

比旋光度: $[\alpha]^{27}_D + 23.3^\circ$ (c 0.70, メタノール)

融点: 165 ~ 167 $^\circ\text{C}$

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm): 0.03,

0.06 and 0.12 (3 H, 6 H and 3 H, each s, (C H₃)₂ of t-butyldimemlylsilyl), 0.89(18H, s, (C H₃)₃ of t-butyldimemlylsilyl), 1.47(9H, s, C O O C (C H₃)₃), 2.55~2.63(1 H, m, 5 - H),
 5 3.63(1 H, dd, J=10.3, 9.3 Hz, 6 -H_{ax}), 3.99 (2 H, m, - C H₂ O T B D M S and 6 - H_{eq}),
 4.11 (1 H, dd, J=14.2, 4.9 Hz, - C H₂ O T B D M S), 4.74 (1 H, d, J= 7.8 Hz, 3 - H), 5.17 (1 H, br t, J=7.1 Hz, 2 - H),
 10 7.30 (1 H, br s, - N H)

I R スペクトル (C H C l₃): 3420, 2950, 2930, 2860, 1730, 1700, 1470, 1390, 1260, 1170, 1000, 840 cm⁻¹

マススペクトル (F A B - M S): m/z 585.5 (M+H)⁺,
 15 529.4, 471.4, 414.4, 372.4, 358.3, 314.3, 284.3, 226.2, 154.2, 73.1, 57.1

(3) N - (ターシャリーブトキシカルボニル) - 5 -
 O - (ターシャリーブチルジメチルシリル) - 3 - (ターシャリーブチルジメチルシリルオキシ) メチル - 6 -
 20 デアセタミド - 3 - デカルボキシ - 4 - エピ - 6 - トリ
 フルオロアセタミドシアスタチン B (化合物 XIVa) の製造

前項(2)で得られた化合物 XIIIa (110mg, 0.188mmol) を無水アセトニトリル (3 ml) に溶解し、その溶液へ - 5

0℃にて水素化ホウ素リチウム (8.2mg, 0.376mmol)を加え、1時間攪拌した(4-ケト基の還元反応)。反応溶液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え反応を停止させた後、クロロホルム30mlで希釈し分液した。有機層を水洗した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過した。ろ液を減圧濃縮した後、残留物を展開溶媒としてn-ヘキサノール-酢酸エチル(10:1)を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、無色泡状の表題化合物(化合物XIVa) 96.9mg (88%)を得た。

10 比旋光度: $[\alpha]^{25}_D + 20.0^\circ$ (c 1.02, メタノール)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , δ ppm): 0.04, 0.06, 0.10 and 0.14 (each 3H, each s, $(\text{CH}_3)_2$ of t-butyltrimethylsilyl), 0.896 and 0.899 (each 9H, each s, $(\text{CH}_3)_3$ of t-butyltrimethylsilyl), 1.47 (9H, s, $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$), 1.83~1.93 (1H, m, 5-H), 2.25 (1H, d, $J=2.9\text{Hz}$, -OH), 3.31 (1H, br d, $J=11.7\text{Hz}$, 6-H), 3.59 (1H, dd, $J=10.0, 5.1\text{Hz}$, - CH_2OTBDMS), 3.70~3.81 (4H, m, - CH_2OTBDMS , 3-H, 4-H and 6-H), 5.88 (1H, br s, 2-H), 8.11 (1H, d, $J=7.3\text{Hz}$, -NH)

IR スペクトル (CHCl_3): 3370, 2960, 2940, 2870, 1740, 1690, 1540, 1480, 1370, 1260, 1160,

1100, 840 cm^{-1}

マススペクトル (F A B - M S) : m/z 587.5 ($M+H$)⁺,
531.5, 487.4, 473.3, 374.4, 316.3, 242.3, 155.2,
73.1, 57.1

- 5 (4) 式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシ
-4-エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロ
アセタミドシアスタチン B の製造

前項 (3) で得られた化合物 XIVa (40mg, 0.0682mmol)
を無水ジオキサン (2 ml) に溶解し、その溶液に 4 N 塩
10 化水素-ジオキサン溶液 (0.4 ml) を加え室温で 5 時間
攪拌した。この反応溶液にさらに 4 N 塩化水素-ジオキ
サン溶液 (0.6ml) を加え室温で 14 時間攪拌した (イミノ
保護基とヒドロキシル保護基の脱離反応)。無色固体が
析出して懸濁した反応溶液にジエチルエーテルを加えて
15 よく攪拌した後、析出した無色固体を遠心分離によって
沈殿させ、上澄みを除いた。得られた沈殿を減圧乾燥さ
せ、無色固体の表題化合物、すなわち式 (X) の化合物 1
8.2mg (91%) を得た。

比旋光度 : $[\alpha]^{26}_D + 35.0^\circ$ (c 0.50, メタノール)

- 20 ^1H -NMR スペクトル (CD_3OD , 40°C, δ ppm) :
1.88~2.00 (1 H, m, 5-H), 3.11 (1 H, br t,
 $J=13.2\text{ Hz}$, 6-H_{ax}), 3.42 (1 H, dd, $J=13.2$,
4.4 Hz, 6-H_{eq}), 3.51 (1 H, dd, $J=10.3$, 9.3
Hz, 4-H), 3.67 (1 H, dd, $J=11.2$, 6.4 Hz,

- C H₂ O H) , 3.73 (1 H , dd , J = 10.3 , 8.8 H z ,
3 - H) , 3.84 (1 H , dd , J = 11.2 , 3.9 H z ,
- C H₂ O H) , 4.84 (1 H , d , J = 9.8 H z , 2 - H)

I R スペクトル (K B r) : 3350 , 1740 , 1570 , 1420 ,
5 1230 , 1180 , 1100 , 1060 , 990 , 880 cm⁻¹

マススペクトル (F A B - M S) : m/z 259.1 (M + H)⁺ ,
202.2 , 154.1 , 146.1 , 136.1 , 128.1 , 107 , 77.1 , 57.1

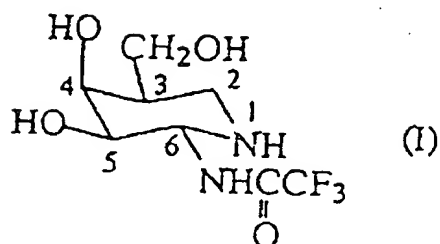
産業上の利用可能性

前記した説明から明らかなように、本発明では、式 (I)
10 の 6 - デアセタミド - 3 - デカルボキシ - 3 - ヒドロキ
シメチル - 6 - トリフルオロアセタミドシアスタチン B
と、式 (V) の 3 - デカルボキシ - 4 - エピ - 3 - ヒド
ロキシシアスタチン B と、式 (X) の 6 - デアセタミド
- 3 - デカルボキシ - 4 - エピ - 3 - ヒドロキシメチル
15 - 6 - トリフルオロアセタミドシアスタチン B が新規な
方法により得られた。

これらの本発明の新規化合物は、グリコシダーゼ、特
に N - アセチルガラクトサミニダーゼ、ガラクトシダー
ゼ、グルコシダーゼおよびマンノシダーゼに対して強い
20 酵素阻害活性を有するので、各種の用途の医薬として有
用である。

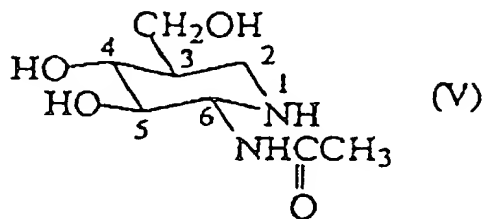
請求の範囲

1. 式 (I)



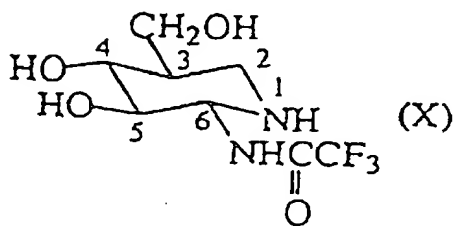
で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-
5 ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアス
タチン B またはその製薬学的に許容できる塩。

2. 式 (V)



で表される 3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキ
10 シメチルシアスタチン B またはその製薬学的に許容でき
る塩。

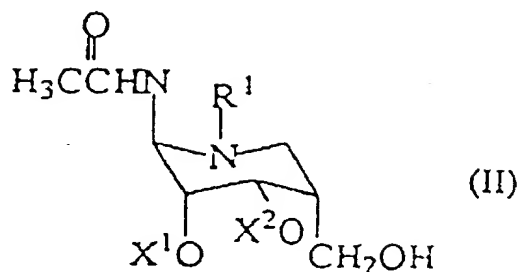
3. 式 (X)



で表される 6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-
15 エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタ

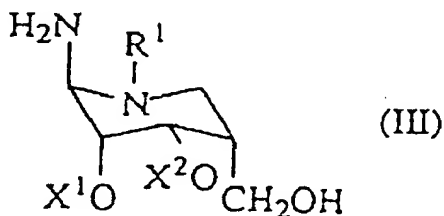
ミドシアスタチン B およびその製薬学的に許容できる塩。

4. 次の一般式 (II)



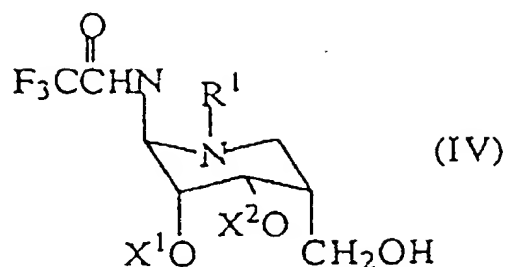
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^1 と X^2 はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは X^1 と X^2 は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す)で表されるN-保護または非保護-4, 5- O -保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチン B からN-アセチル基を脱離して

10 次の一般式 (III)

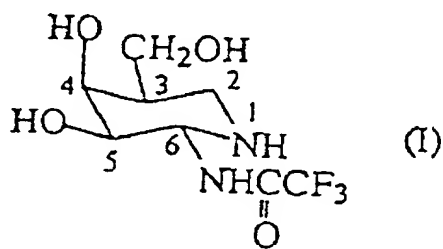


(式中、 R^1 、 X^1 および X^2 は前記と同じ意味をもつ)で表されるN-保護または非保護-4, 5- O -保護-3-ヒドロキシメチル- γ -N-アセチル-3-デカルボキシシアスタチン B を生成し、次いで式 (III) の化合物の遊離のアミノ基をトリフルオロアセチル化して、これにより次の一般式 (IV)

15



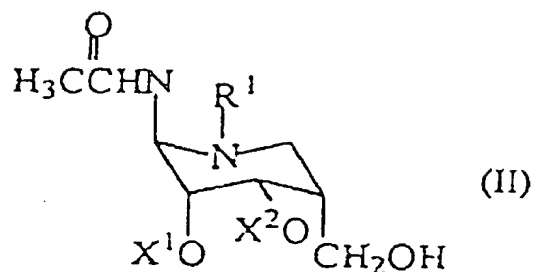
(式中、 R^1 、 X^1 および X^2 は前記と同じ意味をもつ)
 で表されるN-保護または非保護-4,5-O-保護-
 6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフ
 5 ルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを
 生成し、次いで式(IV)の化合物からイミノ保護基(R^1)
 があれば、これを脱離し且つヒドロキシル保護基(X^1 ,
 X^2)を脱離することから成ることを特徴とする、請求
 の範囲1に記載の次式(I)



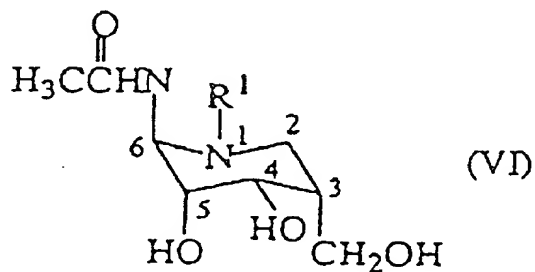
10

で表される6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-
 ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアス
 タチンBの製造法。

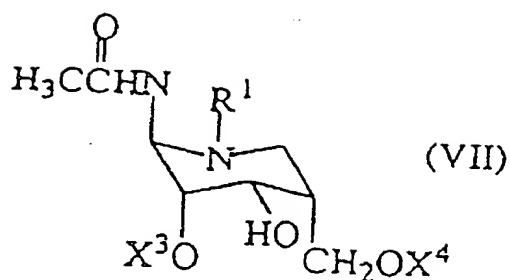
5. 次の一般式(II)



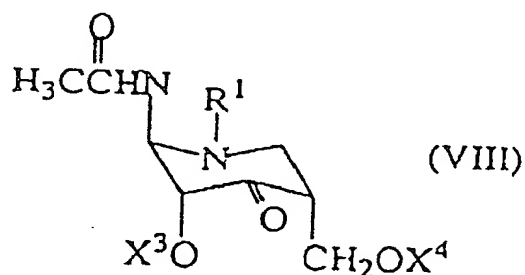
- (式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^1 と X^2 はそれぞれに1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは X^1 と X^2 は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す) で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBからヒドロキシル保護基(X^1 と X^2)を脱離して、次の一般式(VI)



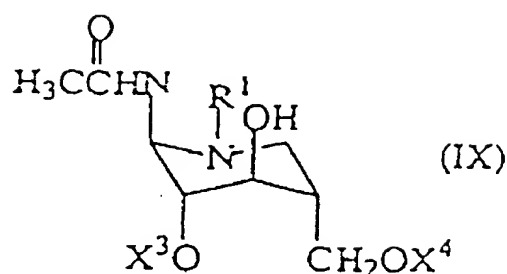
- 10 (式中、 R^1 は前記と同じ意味をもつ) で表されるN-保護または非保護-3-ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VI)の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式(VII)



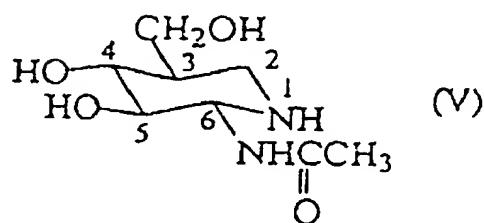
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^3 と X^4 はそれぞれヒドロキシル保護基を示す)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VII)の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式(VIII)



(式中、 R^1 、 X^3 および X^4 は前記と同じ意味をもつ)で表されるN-保護または非保護-4-ケト-5-O-保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(VIII)の化合物の4位ケト基を還元して、次の一般式(IX)

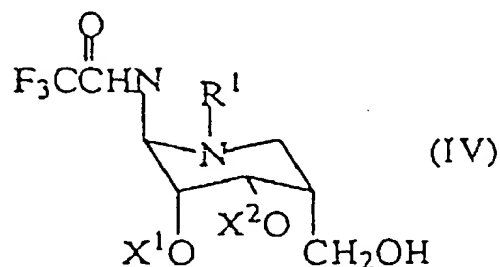


- (式中、 R^1 、 X^3 および X^4 は前記と同じ意味をもつ)
 で表されるN-保護または非保護-4-エピ-5-O-
 保護-3-保護ヒドロキシメチル-3-デカルボキシシ
 5 アスタチンBを生成し、次いで式(IX)の化合物からイ
 ミノ保護基(R^1)があれば、これを脱離し、且つヒド
 ロキシル保護基(X^3 、 X^4)を脱離することから成るこ
 とを特徴とする、請求の範囲2に記載の次式(V)

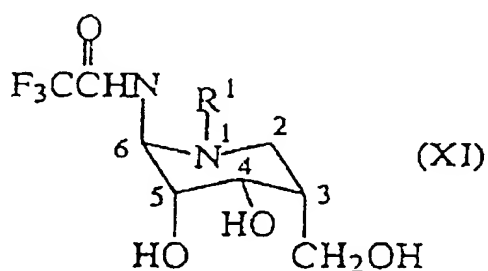


- 10 で表される3-デカルボキシ-4-エピ-3-ヒドロキ
 シメチルシアスタチンBの製造法。

6. 請求の範囲4に記載の方法により次の一般式(IV)



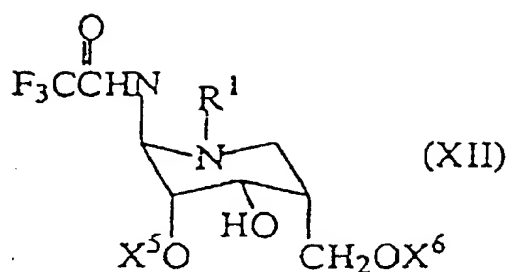
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^1 と X^2 はそれぞれ1価のヒドロキシル保護基であるか、あるいは X^1 と X^2 は両者が共同して2価のヒドロキシル保護基1個を示す)で表されるN-保護または非保護-4, 5-O-保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを用意し、次いで式(IV)の化合物からヒドロキシル保護基(X^1 と X^2)を脱離して、次の一般式(XI)



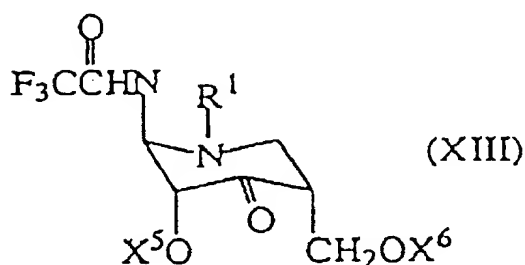
10

(式中、 R^1 は前記と同じ意味をもつ)で表されるN-保護または非保護-6-デアセタミド-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(XI)の化合物の3位ヒドロキシメチル基と5位の遊離の水酸基を保護して、次の一般式(XII)

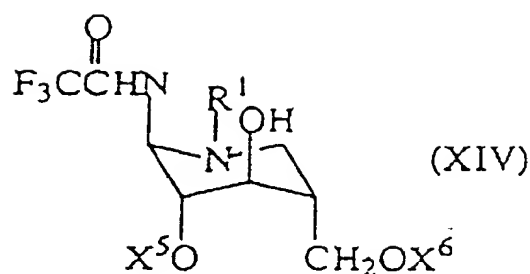
15



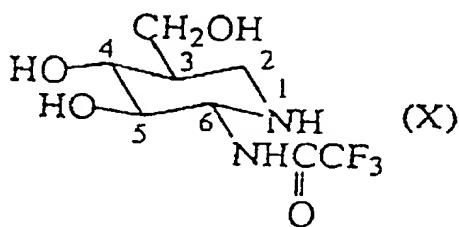
(式中、 R^1 は水素原子またはイミノ保護基であり、 X^5 と X^6 はそれぞれヒドロキシル保護基を示す)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(XII)の化合物の4位水酸基を酸化して、次の一般式(XIII)



(式中、 R^1 、 X^5 および X^6 は前記と同じ意味をもつ)で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-4-ケト-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアスタチンBを生成し、次いで式(XIII)の化合物の4位ケト基を還元して、次の一般式(XIV)



(式中、 R^1 、 X^5 および X^6 は前記と同じ意味をもつ)
 で表されるN-保護または非保護-5-O-保護-4-
 エピ-6-デアセタミド-3-保護ヒドロキシメチル-
 5 6-トリフルオロアセタミド-3-デカルボキシシアス
 タチンBを生成し、次いで(XIV)の化合物からイミノ保
 護基(R^1)があればこれを脱離し、且つヒドロキシル
 保護基(X^5 、 X^6)を脱離することから成ることを特徴
 とする、請求の範囲3に記載の次式(X)



10

で表される6-デアセタミド-3-デカルボキシ-4-
 エピ-3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタ
 ミドシアスタチンBの製造法。

7. 有効成分として、請求の範囲1～3にそれぞれ記載
 15 の式(I)の6-デアセタミド-3-デカルボキシ-3-
 -ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシア
 スタチンBまたは式(V)の3-デカルボキシ-4-エ

- ピー 3-ヒドロキシメチルシアスタチン B または式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシー 4-エピー 3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B、あるいはその製薬学的に許容される塩を、
- 5 製薬学上許容し得る担体とともに含んでなる医薬組成物。
8. 癌の治療剤として、あるいは抗糖尿病剤または抗肥満剤として用いられる請求の範囲 7 に記載の医薬組成物。
9. 請求の範囲 1 ~ 3 にそれぞれ記載の式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシー 3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B または
- 10 式 (V) の 3-デカルボキシー 4-エピー 3-ヒドロキシメチルシアスタチン B または式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシー 4-エピー 3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B、あ
- 15 るいはその製薬学的に許容される塩よりなるグリコシダーゼ阻害剤。
10. 請求の範囲 1 ~ 3 に記載の式 (I) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシー 3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B、式 (V) の 3-デカルボキシー 4-エピー 3-ヒドロキシメチルシアス
- 20 タチン B または式 (X) の 6-デアセタミド-3-デカルボキシー 4-エピー 3-ヒドロキシメチル-6-トリフルオロアセタミドシアスタチン B、あるいはその製薬学的に許容される塩を、医薬組成物の製造に用いる使用。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/07269

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	EIKI SHITARA, YOSHIO NISHIMURA, FUKIKO KOJIMA, TOMIO TAKEUCHI, "A Facile Synthesis of D-Galactose-type Gem Diamine 1-N-Iminosugar: A New Family of Galactosidase Inhibitor", The Journal of Antibiotics, 1999, Vol.52, No.3, p.348-350	1, 4, 7-10
X, P	EIKI SHITARA, YOSHIO NISHIMURA, FUKIKO KOJIMA, TOMIO TAKEUCHI, "A facile Synthesis of D-Glucose-type gem-Diamine 1-N-Iminosugars: A New Family of Glucosidase Inhibitors", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1999, Vol.7, No.6, p.1241-1246	1-3, 5-10
A	JP, 9-157254, A (Microbial Chem. Res. Found), 17 June, 1997 (17.06.97) (Family: none)	1-10
A	YOSHIO NISHIMURA, TAKAHIKO SATOH, TOSHIKI KUDO, SHINICHI KONDO, TOMIO TAKEUCHI, "Synthesis and Activity of 1-N-Iminosugar Inhibitors, Siastatin B Analogues for alpha-N-Acetylgalactosaminidase and beta-N-Acetylglucosaminidase", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1996, Vol.4, No.1, p.91-96	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
02 February, 2000 (02.02.00)

Date of mailing of the international search report
15 February, 2000 (15.02.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C07H7/02, A61K31/7008, A61P3/04, 3/10, 31/12, 35/00, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X, P	EIKI SHITARA, YOSHIO NISHIMURA, FUKIKO KOJIMA, TOMIO TAKEUCHI, "A Facile Synthesis of D-Galactose-type Gem Diamine 1-N-Imino sugar: A New Family of Galactosidase Inhibitor", The Journal of Antibiotics, 1999, Vol. 52, No. 3, p. 348-350	1, 4, 7-10
X, P	EIKI SHITARA, YOSHIO NISHIMURA, FUKIKO KOJIMA, TOMIO TAKEUCHI, "A facile Synthesis of D-Glucose-type gem-Diamine 1-N-Iminosugars: A New Family of Glucosidase Inhibitors", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1999, Vol. 7, No. 6, p. 1241-1246	1-3, 5-10

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02.02.00

国際調査報告の発送日

15.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

吉住 和之

4 P

9165

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 9-157254, A (財団法人微生物化学研究会) 17. 6月. 1997 (17. 06. 97) (ファミリーなし)	1-10
A	YOSHIO NISHIMURA, TAKAHIKO SATOH, TOSHIAKI KUDO, SHINICHI KOND O, TOMIO TAKEUCHI, "Synthesis and Activity of 1-N-Iminosugar I nhibitors, Siastatin B Analogues for alpha-N-Acetylgalactosam inidase and beta-N-Acetylglucosaminidase", Bioorganic & Medic inal Chemistry, 1996, Vol. 4, No. 1, p. 91-96	1-10